Lane Medical Library

Farbmessungen mit dem Pulfrichschen Stufenphotometer am Blutserum Gesunder

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen medizinischen Fakultät

an der

Universität Jena

vorgelegt von

Bernhard Wappler

Assistenzarzt am Städtischen Krankenhaus Erfurt

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin 1928

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Thüringischen Landesuniversität Jena.

Gutachter: Prof. Dr. Veil.

Jena, den 9. Juli 1928.

Prof. Dr. Spiethoff
dz. Dekan.

Ich habe diese Arbeit in der Medizinischen Klinik der Universität Jena unter Leitung von Herrn Professor Veil ausgearbeitet. Weitere Beihilfe hat nicht stattgefunden.

Erfurt, den 9. Juli 1928.

Bernhard Wappler

Sonderdruck aus: „Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin“
Bd. 63, Heft 5/6.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153320_0131

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
1. Einleitung: Die klinische Bedeutung der Serumfarbe	4
2. Methodik der Farbmessung	5
3. Gewinnung des Blutserums	6
4. Die normale Serumfarbe	6
5. Der Einfluß einiger chemisch-physikalischer Faktoren auf die Serumfarbe	
a) Trübung (Lipämie)	9
b) Hämolyse	12
c) Länger dauernde venöse Stauung	13
d) Einfluß des Lichtes auf die Serumfarbe	13
6. ε_b als Maß der Farbkonzentration des Serums	15
7. Zusammenfassung	16

1. Einleitung.

Die Betrachtung der Farbe des Blutserums ist seit langem für die Beurteilung vieler Krankheiten des Blutes, der Leber und der Gallenwege als wichtig erkannt worden. Vor allem hat *Naegeli* [1] auf die diagnostische Bedeutung der Serumfarbe besonders hingewiesen. Als erster hat er 1913 an Hand vieler Untersuchungen gezeigt, daß das Serum bei perniziöser Anämie stets intensiv dunkelgoldgelb gefärbt ist, während es bei der Chlorose ganz hellwässerig aussieht. Bei beiden Krankheiten nähert sich die Serumfarbe mit zunehmender Besserung der Norm. Im Gegensatz zur goldgelben Farbe der perniziösen Anämie weist *Naegeli* auf die intensive gelbgrüne bis gelbbraune Farbe bei hämolytischen Anämien hin. Bekannt ist ferner die dunkle Serumfarbe bei Ikterus, die längst deutlich wird, bevor noch die Haut oder der Urin die charakteristische Färbung aufweisen. Auf besondere Serumfärbung bei gewissen

[1] *Naegeli:* Blutkrankheiten und Diagnostik. Berlin-Leipzig 1919.

Sepsisfällen hat *Schottmüller*[1] hingewiesen. Seit langem ist ferner die Dunkelfärbung bei paroxysmaler Hämoglobinurie sowie manchen Vergiftungen bekannt. Auf die abnorme helle Farbe bei Nierenentzündung, Carcinom und sekundären Anämien hat *Hijmanns van den Bergh*[2] aufmerksam gemacht. Endlich ist hier noch die leuchtende Gelbfärbung bei der Xanthosis diabetica zu erwähnen, die zuerst von *v. Noorden*[3] beschrieben und von *Hijmanns v. d. Bergh* und *Snapper*[4] als Folge eines erhöhten Gehaltes an Lipochrom erkannt worden ist und die *Buerger*[5] als durch das diabetische Kostregim (grünes Gemüse) bedingt ansieht. Die Bedeutung der Serumfarbe für viele pathologische Vorgänge geht aus all dem Gesagten mit großer Deutlichkeit hervor. Wir haben deshalb im folgenden versucht, ohne zunächst auf die den verschiedenen Serumfarben zugrundeliegenden Farbstoffe einzugehen, die bisher nur subjektiv erfaßbare Farbe des Serums mit einer besonderen Methode objektiv zu messen. Wir haben daher die Farbverhältnisse bei zahlreichen Gesunden und Kranken untersucht. Inwieweit diese Methode uns auch Einblick in die Natur der Serumfarbstoffe verschafft, soll im Schlußkapitel kurz gestreift werden.

2. Methodik.

Zur Farbmessung dient uns im folgenden das *Pulfrich*sche Stufenphotometer der Firma Carl Zeiß, Jena[6]. Das Prinzip der Methode besteht darin, daß mit Hilfe einer photometrischen Einrichtung die Lichtabsorption durch Anwendung von drei Farbfiltern in drei großen Spektralgebieten gemessen wird. Die durch die von uns verwendeten drei Filter gegebenen Spektralbezirke sind folgende:

Rotfilter L_1 600—800,
Grünfilter L_2 510—570,
Blaufilter L_3 430—485.

Bei der Messung der Lichtabsorption mit dem Stufenphotometer in diesen drei Spektralbezirken erhalten wir direkt drei Zahlen, die die Intensität des jeweils durchgelassenen Lichtes in Prozenten angeben (i). Durch dieses vereinfachte spektrophotometrische Verfahren ist in einfachster Weise die für das Auge erkennbare Farbe einer Flüssigkeit von bestimmter Schichtdicke im durchfallenden Licht charakterisiert. Normal oder schwächer gefärbte Sera haben wir gewöhnlich bei 1 cm

[1] Klin. med. Wschr. **1914**, Nr 5.
[2] *Hijmanns v. v. Bergh:* Die Gallenfarbstoffe. Leiden 1918.
[3] *v. Noorden:* Internationaler Dermatologenkongreß Berlin 1909.
[4] Dtsch. Arch. klin. Med. **110**, 540 (1913).
[5] *Buerger:* Dtsch. med. Wschr. **1919**, Nr 16, 1.
[6] S. darüber *L. Heilmeyer:* Farbmessungen an gefärbten Körperflüssigkeiten mit dem *Pulfrich*schen Stufenphotometer in *Abderhaldens* Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, ferner diese Zeitschrift **58**, 532 (1927).

Schichtdicke untersucht. Stärker gefärbte Sera müssen bei geringerer Schichtdicke (von 5—1 mm) gemessen werden.

3. Gewinnung des Blutserums.

Bei der Gewinnung des Blutserums zum Zwecke der Farbmessung muß man auf allerlei Dinge achten, die bei Nichtbefolgung zu falschen Ergebnissen führen. Die Abnahme des Blutes muß bei nüchternem Patienten erfolgen. Man nimmt am besten eine dicke Kanüle und läßt das Blut vorsichtig in ein großes Zentrifugenglas laufen. Dabei soll die Stauungsbinde so kurz wie möglich angelegt werden, da längere Stauung die Farbwerte des Serums verändert (siehe unten). Nach der Abnahme wird das Blut sofort in den Eisschrank gestellt, wo man es 2—3 Stunden stehen läßt. In dieser Zeit hat sich meistens genügend Serum abgesetzt, gegebenenfalls hilft man durch vorsichtiges Zentrifugieren nach. Unter allen Umständen ist zu scharfes Zentrifugieren zu vermeiden, so lange das Serum noch mit dem Blutkuchen in Berührung ist, da sonst die Gefahr der Hämolyse besteht. Danach pipettiert man das Serum in ein kleineres Zentrifugenglas ab und zentrifugiert nochmals scharf nach. Zur Farbmessung muß das Serum vollkommen klar sein; die Messung ist sofort auszuführen.

4. Die normale Serumfarbe.

Im folgenden haben wir von 45 Normalpersonen die Serumfarbe bestimmt. Die sämtlichen Sera waren soweit als möglich frei von Trübungen, sowie von Hämoglobin, wie wir durch spektroskopische Kontrolle feststellten. Es ließ sich allerdings häufig nicht ganz vermeiden, daß der erste Hämoglobinstreifen bei 577 $\mu\mu$ eben angedeutet sichtbar war.

Die Messung erfolgte bei einer Schichtdicke von 10 mm.

	i für 10 mm Schichtdicke				i für 10 mm Schichtdicke		
	Rot	Grün	Blau		Rot	Grün	Blau
1	86	66	7	16	92	76	17
2	85	72	23	17	87	75	23
3	66	74	15	18	83	72	17
4	84	60	23	19	85	72	20
5	86	68	21	20	80	68	23
6	88	75	15	21	87	77	17
7	88	76	23	22	82	73	14
8	86	70	12	23	82	64	18
9	81	60	23	24	92	74	12
10	87	70	19	25	89	73	13
11	93	74	17	26	86	66	7
12	90	71	12	27	85	67	10
13	93	84	21	28	85	70	19
14	94	82	23	29	76	60	20
15	90	77	23	30	87	72	24

	i für 10 mm Schichtdicke				i für 10 mm Schichtdicke		
	Rot	Grün	Blau		Rot	Grün	Blau
31	87	76	13	39	80	60	14
32	78	64	18	40	78	72	14
33	89	79	29	41	92	80	23
34	93	85	20	42	90	78	26
35	94	81	24	43	78	73	17
36	80	73	18	44	90	70	18
37	82	76	19	45	88	69	14
38	80	75	18				

Wir sehen aus den angeführten Zahlen, daß die Lichtabsorption im Rot am geringsten ist; im Grün ist sie etwas größer, während sie im Blau weitaus am stärksten hervortritt. Schon diese einfache Betrachtung zeigt einen deutlichen Unterschied gegenüber der Harnfarbe[1]: Die Blauabsorption ist bei Blau bedeutend größer. Wir werden auf die Bedeutung dieses Unterschiedes noch zurückkommen. Die Intensität des im Rot durchgehenden Lichtes liegt zwischen 93 und 74, im Grün zwischen 84 und 60, im Blau zwischen 29 und 7. Es muß jedoch hierbei bemerkt werden, daß die Zahlen für Blau nur in 2 Fällen unter 10 liegen. Diese beiden Sera zeigten aber eine sofort auftretende deutliche indirekte Diazoreaktion, so daß hier wohl eine abnorme Vermehrung des Bilirubins anzunehmen ist, wenn auch keine klinisch erkennbare Ursache dafür nachweisbar war. Es handelt sich also wohl um Konstitutionstypen, die schon *Hijmanns v. d. Bergh* und französische Autoren (*Gilbert*) erkannt haben. Sehen wir von diesen beiden Fällen ab, so liegt die geringste normale Durchlässigkeit für Blau bei 10. Eine Übersicht über die Schwankungsbreite der Normalsera ergibt die vorstehende Abbildung.

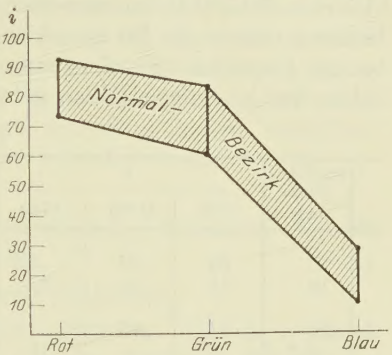


Abb. 1. Physiologische Schwankungsbreite der normalen Serumfarbe.

Während die 3 Zahlen für i in einfacher Weise die Farbe des Serums charakterisieren, ist es notwendig, um Rückschlüsse auf die Farbkonzentration machen zu können, die negativen Logarithmen von i, die sog. Extinktionskoeffizienten auszurechnen. Die Verhältnisse derselben geben uns gleichzeitig einen Anhaltspunkt darüber, ob im Blutserum ein einheitlicher Farbstoff oder ein Gemisch von Farbstoffen vorliegt. Handelt es sich nämlich um einen einheitlichen Farbstoff, so müßte das Verhältnis der Extinktionskoeffizienten ein konstantes sein. Die

[1] Siehe *Heilmeyer:* Z. exper. Med. 58, 582 (1927).

45 von uns gemessenen Normalsera zeigen folgende Schwankungsbreite der Extinktionskoeffizienten:

ε_r zwischen 0,028 und 0,125
ε_g zwischen 0,07 und 0,22
ε_b zwischen 0,53 und 1,0

Wie wir sehen, ist die Schwankungsbreite für ε_r am größten, für ε_b am geringsten. Dies mag zum Teil davon herrühren, daß die Fehlergrenze der Bestimmung für ε_r infolge der geringen Lichtabsorption weitaus am größten ist. Aus demselben Grund beeinflussen geringe Trübungen ε_r am stärksten, wie weiter unten gezeigt werden soll. Zur Berechnung der Extinktionskoeffizientenverhältnisse ist es deshalb ratsam, ε_r und ε_g durch Messung des Serums in größeren Schichtdicken zu bestimmen (20 mm) und auf 10 mm umzurechnen und mit den bei kleineren Schichtdicken gemessenen Werten zu vergleichen. Bei exakter Messung müssen die bei verschiedenen Schichtdicken gefundenen Zahlen bei der Umrechnung auf 10 mm ein und denselben Wert ergeben. Wir haben das in einigen Fällen getan und folgende Werte gefunden.

Tabelle.

	Schichtdicke mm	i			Auf 10 mm Schichtdicke berechnet				
		Rot	Grün	Blau	ε_r	ε_g	ε_b	$\varepsilon_b/\varepsilon_g$	$\varepsilon_g/\varepsilon_r$
1	20	64	50	4,5	0,09	0,15	0,67	4,5	1,58
	10	81	73	22	0,08	0,13	0,65	5,0	1,53
2	20	74	45	—	0,06	0,17	—	—	2,74
	5,3	—	—	31	—	—	0,95	5,6	2,74
3	20	71	43	—	0,07	0,18	—	—	2,6
	5,3	—	—	28	—	—	1,04	5,8	2,6
4	20	68	47	—	0,08	0,16	—	5,05	2,0
	5,3	—	—	38	—	—	0,81	—	—
5	20	72	46	—	0,07	0,17	—	—	—
	5,5	—	80	51	—	0,17	0,95	5,6	2,43
	2,578	—	88	53	—	0,18	0,97	5,4	—
6	20	68	43	—	0,08	0,18	—	—	2,3
	5,3	—	79	35	—	0,19	0,85	4,5	2,35
7	20	75	60	—	0,06	0,11	—	—	—
	10	84	74	24	0,07	0,12	0,61	5,0	1,74
	5,3	—	—	48	—	—	0,6	—	—
8	20	71	36	—	0,07	0,22	—	—	—
	10	83	59	10,5	0,07	0,22	0,98	4,45	2,94
	5,3	—	—	30	—	—	0,98	—	—
9	10	83	70	16	0,07	0,15	0,79	5,2	2,0
	5,3	90	81	39	0,07	0,16	0,78	4,9	2,1
10	10	94	86	46	0,025	0,06	0,33	5,5	2,4

Wie man sieht, liegen die Werte für die 3 Extinktionskoeffizienten ε_r, ε_b, ε_g ebenfalls wieder in der von uns aufgestellten Normalbreite, so daß sich diese jetzt auf 55 Fälle gründet. Die EKV $\varepsilon_b/\varepsilon_g$, wie $\varepsilon_g/\varepsilon_r$ ergeben dabei keine konstanten Werte. Das Verhältnis $\varepsilon_b/\varepsilon_g$ liegt in den 10 untersuchten Fällen zwischen 4,5 und 5,8 = 29% Maximalschwankung. Das Verhältnis $\varepsilon_g/\varepsilon_r$ zwischen 1,53 und 2,94 = 92% Maximalschwankung. Da die größte Fehlerbreite bei der angewandten Methode der Bestimmung der EKV 10% beträgt, so liegen die gefundenen Schwankungen sicher weit außerhalb der Fehlerbreite. Es handelt sich also um Veränderungen in der Farbstoffzusammensetzung des Blutserums. Wir können daraus mit Sicherheit sagen, daß die Farbe des Blutserums nicht durch einen einzigen Farbstoff, sondern ebenso wie der Urin durch ein Gemisch von Farbstoffen bedingt ist, das in seiner Zusammensetzung wechselt. Allerdings erweist sich die Zusammensetzung der Serumfarbstoffe viel konstanter als die der Urinfarbstoffe. Die Schwankungsbreite der EKV ist im Serum bei weitem geringer. Ferner sehen wir aus den EKV, daß im Serum ganz andere Farbstoffe vorliegen müssen, als im Harn, wie sich vor allem in dem Verhältnis $\varepsilon_b/\varepsilon_g$ zeigt, das beim Gesunden im Harn zwischen 3 und 4 liegt.

5. Der Einfluß einiger chemisch-physikalischer Faktoren auf die Serumfarbe.

a) Einfluß der Trübung (Lipämie).

Während das Serum eines nüchternen gesunden Menschen nahezu frei von Trübungen ist und nur bei scharfer seitlicher Beleuchtung einen zarten Tyndallkegel infolge der Serumkolloide erkennen läßt, sehen wir bei manchen Krankheiten, vor allem bei Nephritis und Diabetes auch im nüchternen Zustande stärker getrübte Sera. Da diese Trübungen durch Fette verursacht werden, spricht man von Lipämie. Es ist klar, daß derartige Trübungen nicht ohne Einfluß auf die Ergebnisse der Farbmessung sein werden. Um die Art und Größe dieses Einflusses kennen zu lernen, haben wir folgende Untersuchungen angestellt:

Bei einer Reihe von Versuchspersonen wurde Blut morgens nüchtern abgenommen und die Serumfarbe gemessen. Einige Stunden später wurde dann nach einer fettreichen Mahlzeit abermals Blut abgenommen und wiederum die Farbe bestimmt. Aus folgender Tabelle geht die durch Lipämie bedingte Abweichung deutlich hervor.

Die sämtlichen Versuche lassen eindeutig den Einfluß der Trübung auf die Serumfarbe erkennen. Die Lichtabsorption nimmt in sämtlichen 3 Spektralbezirken infolge der Lipämie ungefähr der Stärke der Trübung entsprechend zu. Am stärksten wird diese Zunahme der Lichtabsorption in denjenigen Spektralgebieten bemerkbar, in denen die

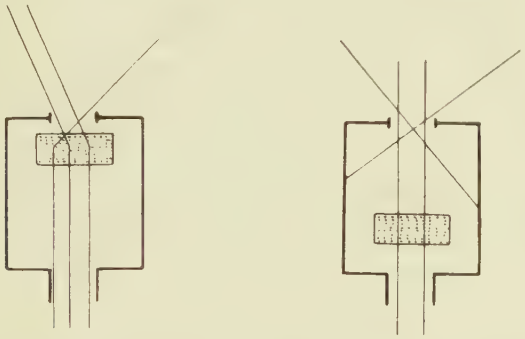
Tabelle.

	Schichtdicke mm	i			Auf 10 mm Schichtdicke berechnet				
		Rot	Grün	Blau	ε_r	ε_g	ε_b	$\varepsilon_b/\varepsilon_g$	$\varepsilon_g/\varepsilon_r$
				nüchtern ungetrübt					
1	20	72	46	—	0,07	0,17	—	—	—
	5,3	—	80	31	—	0,17	0,95	5,6	2,43
				derselbe Fall post coenam sehr stark milchig getrübt.					
	20	23	10	—	0,32	0,50	—	—	—
	2,78	83	66	42	0,29	0,65	1,35	2,1	2,2
				nüchtern ungetrübt					
2	5,3	93	83	17	0,057	0,14	1,45	10,4	2,5
				derselbe Fall post coenam (geringe Lipämie)					
	20	68	47	—	0,083	0,178	—	—	2,1
	5,3	88	79	13,5	0,095	0,19	1,65	8,7	2
				nüchtern ungetrübt					
3	20	75	60	—	0,06	0,11	—	—	—
	10	83	74	24	0,07	0,12	0,61	5,1	1,7
				derselbe Fall post coenam; leicht lipämisch					
	20	66	45	—	0,09	0,17	—	3,7	1,9
	5,3	—	—	46	—	—	0,63	—	—

Farbstoffe am geringsten auslöschen. In unserem Falle also in Rot und Grün, während im Blau in dem die Lichtabsorption durch die Serumfarbstoffe eine maximale ist, sich die Trübung am wenigsten auswirkt. Deshalb sehen wir im Rot und Grün eine gewaltige Zunahme der Extinktionskoeffizienten wie z. B. in Fall 1 um viele 100%, während ε_b nur um etwa 40% wächst. Dementsprechend ändern sich auch die EKV. Wir sehen das Verhältnis $\varepsilon_b/\varepsilon_g$ sehr stark abnehmen, während das Verhältnis $\varepsilon_g/\varepsilon_r$ infolge der nahezu gleichmäßigen Zunahme dieser beiden Extinktionskoeffizienten sich nur wenig ändert. Ein weiterer Punkt fällt bei der Betrachtung unserer Versuchsprotokolle auf. Während wir bei ungetrübten Seren eine gute Übereinstimmung der aus den verschiedensten Schichtdicken berechneten Extinktionskoeffizienten finden, fallen diese Werte bei trüben Seren vielfach auseinander. Diese Tatsache hat uns anfänglich viel Kopfzerbrechen gemacht, bis wir entdeckten, daß die Werte bei trüben Seren stark abhängig von der Stellung des Absorptionsgefäßes zum einfallenden Licht sind. Bringen wir nämlich das Absorptionsgefäß nahe an die Einfallsöffnung heran, so nimmt die Lichtabsorption ab, entfernen wir es, so nimmt dieselbe zu, wie folgender Versuch zeigt:

Schichtdicke mm	i Rot	i Grün	i Blau	Auf 10 mm Schichtdicke berechnet ε_r	ε_g	ε_b	$\varepsilon_b/\varepsilon_g$	$\varepsilon_g/\varepsilon_r$
				ungetrübt nüchtern				
20	80	56	8	0,045	0,125	0,55	4,4	2,8
10	87	74	28	0,05	0,125	0,53	4,4	2,5
				derselbe Fall post coenam stark lipämisch. Absorptionsgefäß vorn stehend.				
20	82	52	9	0,04	0,14	0,52	3,7	3,7
				Absorptionsgefäß hinten stehend.				
20	65	46	7	0,095	0,17	0,57	3,35	1,79

Der Versuch zeigt einwandfrei, daß die Absorption zunimmt, wenn das Gefäß weit hinter der Einfallsöffnung steht. Umgekehrt nimmt die



a b

Abb. 2. Gang der Lichtstrahlen bei trüben Medien: a wenn das Absorptionsgefäß vorne, nahe der Einfallsöffnung steht, b wenn es hinten, entfernt der Einfallsöffnung steht.

Absorption ab, wenn das Gefäß nahe der Einfallsöffnung steht. Es kommt sogar vor, wie ebenfalls aus dem Versuch hervorgeht, daß in letzterem Falle die Absorption geringer ist, als beim ungetrübten Serum. Die Trübung wirkt also in diesem Falle aufhellend. *L. Heilmeyer* hat auf diese Tatsache bei der Messung trüber Urine bereits hingewiesen, bei denen es sogar vorkommt, daß die Intensität des durch den getrübten Urin gehenden Lichtes größer als 100% ist. Wir haben das anfänglich als Fluorescenzerscheinungen gedeutet. Die eingehenden Untersuchungen machen jedoch folgende Erklärung wahrscheinlich. Steht das Absorptionsgefäß nahe der Einfallsöffnung, so kann das Licht nicht nur senkrecht von vorn, sondern auch von der Seite in das Absorptionsgefäß eindringen. Das seitlich einfallende Licht wird durch die trüben Teilchen reflektiert und gelangt noch ins Photometer. Steht das Gefäß dagegen von der Einfallsöffnung weiter entfernt, so gelangen die seitlich einfallenden Strahlen nicht mehr in das Absorptionsgefäß, sondern werden von der schwarzen Wand ausgelöscht. Siehe Abb. 2.

b) Einfluß der Hämolyse.

Wir haben bereits eingangs betont, daß das Blut sehr sorgfältig abgenommen werden muß, um jede Hämolyse zu vermeiden. Um die Fehler, die auch eine geringgradige, für das Auge kaum erkennbare Hämolyse herbeiführt, genau kennen zu lernen, wurden folgende Versuche ausgeführt: Blut wurde vorsichtig abgenommen, davon eine Portion hämolysefreies Serum gewonnen, eine zweite Portion wurde durch Aufziehen mit der Spritze oder durch Schütteln hämolytisch gemacht, die Oxyhämoglobinstreifen waren im Spektroskop sehr ausgeprägt wahrnehmbar.

Tabelle.

	Schichtdicke mm	i rot	i grün	i blau	Auf 10 mm Schichtdicke berechnet ε_r	ε_g	ε_b	$\varepsilon_b/\varepsilon_g$	$\varepsilon_g/\varepsilon_r$
					Serum nicht hämolytisch				
1	10	87	76	16	0,055	0,115	0,79	7,2	2,1
					derselbe Fall: Serum leicht hämolytisch 2 Streifen eben zu sehen				
	10	85	63	16	0,065	0,195	0,79	4,05	3,0
					Serum nicht hämolytisch				
2	10	85	68	23	0,065	0,16	0,64	4,0	2,46
					derselbe Fall: Serum stark hämolytisch 2 Streifen deutlich zu sehen und schon mit dem freien Auge eine rote Verfärbung erkennbar				
	10	75	46	13	0,12	0,335	0,88	2,66	2,75
					Serum nicht hämolytisch				
3	10	82	78	23	0,08	0,1	0,64	6,4	1,25
					derselbe Fall: Serum stark hämolytisch 2 Streifen deutlich sichtbar				
	10	67	47	18	0,17	0,33	0,74	2,31	1,88
					Serum nicht hämolytisch				
4	10	82	74	30	0,08	0,125	0,52	4,16	1,56
					derselbe Fall: Serum leicht hämolytisch 2 Streifen eben sichtbar				
	10	74	61	29	0,125	0,21	0,53	2,52	1,75

Wir sehen also, daß in allen Fällen die Hämolyse starken Einfluß auf die Serumfarbe ausübt. In den 3 Spektralbezirken nimmt die Absorption zu, am stärksten im Grün, weniger im Rot und am geringsten im Blau. Selbst in Fällen, bei denen eine Rotfärbung des Serums mit dem freien Auge nicht deutlich erkennbar war, sehen wir eine Zunahme der Grünabsorption, während die Blauabsorption hierbei nicht geändert wird. Ganz entsprechend verhalten sich die EKV. Wir sehen das Verhältnis $\varepsilon_b/\varepsilon_g$ bei Hämolyse sehr stark abnehmen, während das Verhältnis $\varepsilon_g/\varepsilon_r$ leicht ansteigt, oder nahezu unverändert bleibt. Selbst Spuren von Hämoglobin die spektroskopisch eben noch erkennbar sind,

haben einen deutlichen Einfluß auf das Verhältnis $\varepsilon_b/\varepsilon_g$, das um so mehr verändert wird, je stärker einerseits die Hämolyse, je geringer andererseits der Gehalt an normalen Serumfarbstoffen ist. Der ε_b-Wert dagegen wird auch durch stärkere Hämolyse nur wenig verändert.

c) Der Einfluß länger dauernder venöser Stauung bei der Blutentnahme.

Bei länger dauernder venöser Stauung sehen wir eine Zunahme der Lichtabsorption vor allem im Blau. Herr Dr. *Recknagel* an der Medizinischen Klinik zu Jena hat darüber eingehende Versuche angestellt, die demnächst veröffentlicht werden. Er konnte zeigen, daß neben der Zunahme der Serumfarbstoffe auch die Serumeiweißkörper und das Hämoglobin sowie die Erythrocytenzahl parallel ansteigen. Die Zunahme der Serumfarbstoffe beruht also wohl darauf, daß bei länger dauernder venöser Stauung das Blut eingedickt wird, also Wasser in das Gewebe übertritt. Interessant ist dabei, daß die Serumfarbstoffe offenbar die Blutbahn nicht verlassen, sondern mit größter Wahrscheinlichkeit an den Serumkolloiden hängen. Diese Ansicht stimmt auch mit den Ultrafiltrations- und Dialyseversuchen *Hijmanns v. d. Bergh* [1] überein, bei denen sich Bilirubin ebenfalls nicht von den Eiweißkolloiden abtrennen ließ. Für exakte Farbmessung muß man deshalb das Blut so schnell als möglich absuchen und Stauungen so weit als möglich vermeiden.

d) Einfluß des Lichtes auf die Serumfarbe.

Zuletzt wurde noch untersucht, inwieweit sich die Serumfarbe bei längerem offenen Stehen am Sonnenlicht oder bei künstlicher Belichtung verändert. Dabei zeigt sich, daß das Stehen an der Luft im Dunkeln in 24 Stunden keine meßbare Veränderung herbeiführt. Sehr empfindlich dagegen zeigten sich die Serumfarbstoffe gegenüber Belichtung. Bereits halbstündige grelle Sonnenbeleuchtung führte zu starken Veränderungen der Serumfarbe, wie folgende Versuche zeigen.

Tabelle.

	Schichtdicke mm	i			Auf 10 mm Schichtdicke berechnet				
		Rot	Grün	Blau	ε_r	ε_g	ε_b	$\varepsilon_b/\varepsilon_g$	$\varepsilon_g/\varepsilon_r$
1. Versuch. Blut 4 Stunden im Dunkeln stehen gelassen, dann vorsichtig zentrifugiert.									
1	10	88	75	15	0,05	0,12	0,82	6,8	2,4
dasselbe Blutserum 24 Stunden im Eisschrank									
2	10	88	75	15	0,05	0,12	0,82	6,8	2,4
dasselbe Blutserum $^1/_2$ Stunde im grellen Sonnenlicht									
3	10	78	71	21	0,1	0,145	0,625	4,4	1,4

[1] *Hijmanns v. d. Bergh:* l. c.

	Schichtdicke mm	i			Auf 10 mm Schichtdicke berechnet				
		Rot	Grün	Blau	ε_r	ε_g	ε_b	$\varepsilon_b/\varepsilon_g$	$\varepsilon_g/\varepsilon_r$
2. Versuch.	*Blut 4 Stunden im Dunkeln stehen gelassen, dann vorsichtig zentrifugiert*								
1	5,3	81	75	35	0,16	0,23	0,86	3,7	1,4
	Blut 24 Stunden im Dunkeln								
2	5,3	81	75	35	0,16	0,23	0,86	3,7	1,4
	Blut $^1/_2$ Stunde bei greller Sonnenbestrahlung								
3	5,3	75	72	42	0,23	0,28	0,70	2,5	1,3
3. Versuch.	*Blut 4 Stunden im Dunkeln stehen gelassen, dann vorsichtig zentrifugiert (Ikterus)*								
1	5,3	85	66	—	0,13	0,32	—	—	—
	2,78	—	—	1,1	—	—	7,0	21,8	2,65
	Blut 30 Minuten mit Quecksilberlampe bestrahlt								
2	5,3	65	52	—	—	—	—	—	—
	2,78	82	73	2,0	0,38	0,54	6,1	11,3	1,4

Die halbstündige Besonnung führt also bereits zu starken Veränderungen der Serumfarbe, und zwar nimmt die Lichtabsorption im Rot und Grün zu, während sie im Blau abnimmt. Umgekehrt verhalten sich natürlich die Extinktionskoeffizienten. Die EKV nehmen beide ab, besonders das Verhältnis $\varepsilon_b/\varepsilon_g$. Für das freie Auge tritt die Änderung der Serumfarbe als Abblassen in Erscheinung. Da dieser Vorgang des Abblassens im Licht in der Literatur mehrfach zu irrigen Meinungen geführt hat, so sei darauf näher eingegangen. So führt Herr *Jaguttis* [1] die rasch abblassende gelbe Farbe des Liquors bei Ikterus auf Grund dieser Eigenschaft auf Lipochrome zurück und benutzt diese Tatsache als Beweis, daß es sich bei diesen Fällen nicht um Bilirubin handelt. Auch *Tannhauser* [2] meint, daß ein schnelles Abblassen der Serumfarbe gegen Bilirubin spreche. Unsere oben angeführten Versuche zeigen, daß ein Abblassen des Serums eigentlich nur im blauen Spektralbezirk stattfindet, während im Rot und Grün sogar eine Zunahme der Absorption eintritt. Genau dieselbe Verschiebung der Extinktionskoeffizienten findet sich jedoch bei der Umwandlung des Bilirubins zu Biliverdin. Wird eine schwach alkalische Bilirubinlösung bis zur normalen Serumfarbe verdünnt und dem Lichte ausgesetzt, so sehen wir ebenfalls ein Abblassen eintreten, wie bereits von *Bergmann* [3] beobachtet hat. Etwas konzentriertere Bilirubinlösungen zeigen dagegen diesen Vorgang nicht. Wird das Abblassen verdünnter Bilirubinlösungen durch exakte photometrische Messungen in allen 3 Spektralbezirken verfolgt, so sehen wir

[1] Klin. Wschr. **6**, 2143 (1927).
[2] 37. Kongreß f. inn. Med. Verh. **1925**, 277.
[3] *von Bergmann:* Klin. Wschr. **6**, 776 (1927).

im Prinzip dieselben Veränderungen der Extinktionskoeffizienten auftreten, wie beim Abblassen der Serumfarbe, wie folgender Versuch zeigt. Es wurde ein normales schwach gefärbtes Serum gleichzeitig mit einer farbgleichen verdünnten Bilirubinlösung 30 Minuten lang mit einer Quecksilberlampe bestrahlt.

Tabelle.

Schichtdicke mm	Rot	Grün	Blau	Auf 10 mm Schichtdicke umgerechnet				
				ε_r	ε_g	ε_b	$\varepsilon_b/\varepsilon_g$	$\varepsilon_g/\varepsilon_r$
1. Versuch. Bilirubinlösung vor der Bestrahlung gemessen (vor Bestrahlung 1,3 Bilirubineinheiten)								
30	95	86	9	0,007	0,02	0,34	—	—
20	97	91	18	0,005	0,02	0,37	—	—
10	—	—	42	—	—	0,37	18,5	4,0
dieselbe Bilirubinlösung 30 Minuten mit Quecksilberlampe bestrahlt (nach Bestrahlung 0,8 Bilirubineinheiten)								
20	95	90	33	0,01	0,02	0,24	12,0	2,0
2. Versuch. Serum vor der Bestrahlung gemessen								
10	82	78	23	0,08	0,1	0,64	6,4	1,3
dasselbe Serum 30 Minuten mit Quecksilberlampe bestrahlt								
10	82	77	33	0,08	0,11	0,47	4,3	1,4

Damit dürfte der Beweis erbracht sein, daß es sich beim Abblassen der Serumfarbe am Licht um die Umwandlung des Bilirubins in Biliverdin bei stark verdünnten Lösungen handelt. Bei stärker konzentrierten Bilirubinlösungen treten prinzipiell die gleichen Vorgänge in Erscheinung, jedoch viel langsamer und für das Auge nicht so deutlich erkennbar. Erst bei tagelangem Stehen solcher Lösungen tritt zunächst eine Braunfärbung und erst zuletzt die zunehmende Grünfärbung des Biliverdins auf. Was bei konzentrierten Bilirubinlösungen als Umwandlungen in Grün imponiert, erscheint bei stark verdünnten Lösungen als Abblassen.

6. ε_b als Maß der Farbkonzentration des Serums.

Durch die oben angestellten Messungen der Serumfarbe in den 3 Spektralgebieten hat sich deutlich gezeigt, daß die Extinktionskoeffizienten für Rot und Grün größeren Schwankungen unterliegen, als die für Blau. Wir haben weiterhin gesehen, daß die erstgenannten Extinktionskoeffizienten Veränderungen bei hämolytischen und lipämischen Seren zeigen, die mehrere 100% betragen. Im Blau hingegen gehen diese Veränderungen nur bis zu 30 oder 40%. Diese starken Schwankungen der Extinktionskoeffizienten, sowie der EKV von ε_r und ε_g sind in erster Linie bedingt durch die geringe Lichtabsorption

in diesem Bereich, so daß sich die Extinktionskoeffizienten schon verändern, sobald auch nur geringe chemisch-physikalische Vorgänge die Serumfarbe beeinflussen. Infolge der geringen Lichtabsorption ist es ferner sehr schwierig, exakte Werte zu erhalten, besonders wenn man die Serumfarbe in geringen Schichtdecken mißt. Wir empfehlen deshalb, wie bereits oben erwähnt, zur Messung der Serumfarbe in diesen Gebieten größere Schichtdicken (10 bis 30 mm) zu verwenden und die Extinktionskoeffizienten zu vergleichen und auf 10 mm umzurechnen. Da die Extinktionskoeffizienten für Rot und Grün aus den dargelegten Gründen sehr variieren, vor allem schon durch geringe Hämolyse stark beeinflußt werden, sind sie als Maß für die Farbkonzentration des Serums nicht brauchbar. Dagegen erweist sich ε_b, der Extinktionskoeffizient für Blau, der von all diesen Einflüssen nahezu unabhängig ist, als ein ausgezeichneter Maßstab für die Farbkonzentration des Serums. Wir können ihn umso eher wählen, als die Zusammensetzung der Serumfarbstoffe nur geringen Schwankungen unterliegt. Er ist aus den angeführten Gründen allen kolorimetrischen Methoden weit überlegen. Die normale Schwankungsbreite für ε_b liegt zwischen 0,5 und 1,0. Alle Werte, die über 1,0 oder unter 0,5 liegen, sind pathologisch, d. h. in diesen Fällen liegt eine abnorme Vermehrung bzw. Verminderung der Serumfarbstoffe vor.

Zusammenfassung.

Es wurden mit dem *Pulfrich*schen Stufenphotometer Farbmessungen in zahlreichen Normalseren in 3 großen Spektralgebieten Rot, Grün und Blau vorgenommen. Dabei zeigte sich folgendes: Die Extinktionskoeffizienten schwankten im Rot (500—800 $\mu\mu$) zwischen 0,028 und 0,125, im Grün (510—580 $\mu\mu$) zwischen 0,07 und 0,22, im Blau (430 bis 485 $\mu\mu$) zwischen 0,5 und 1,0. Wir haben ferner gesehen, daß die Extinktionskoeffizienten für Rot und Grün stark beeinflußt werden durch Hämolyse und Lipämie. Die Veränderungen der Serumfarbe, die wir nach intensiver Beleuchtung (Sonne oder Quecksilberlicht) beobachtet haben, gleichen völlig denen, die eine verdünnte Bilirubinlösung durch dieselben Einwirkungen erfährt. Daraus müssen wir den Schluß ziehen, daß an der Farbe des Serums das Bilirubin neben anderen Farbstoffen den weitaus wichtigtsen Anteil hat, was mit den klassischen Untersuchungen von *Hijmanns v. d. Bergh* [1] ausgezeichnet übereinstimmt. Der Extinktionskoeffizient für Rot und Grün ist aus den angeführten Ursachen als Maß der Farbkonzentration des Serums nicht zu verwenden. Dagegen haben wir in dem Extinktionskoeffizient für Blau, der nur wenig durch chemisch physikalische Faktoren beeinflußt wird, einen klinisch brauchbaren Maßstab der Farbkonzentration des Serums.

[1] *Hijmanns v. v. Bergh:* l. c.

Zum Schluß spreche ich Herrn Professor Dr. *Veil* für die freundliche Überlassung des Themas und für seine Ratschläge den herzlichsten Dank aus.

Lebenslauf.

Ich, *Bernhard Wappler*, der Sohn des Kaufmanns *Bernhard Wappler* und seiner Ehefrau *Alma* geb. *Schädlich*, wurde am 11. März 1902 zu Dresden geboren. Mit dem 6. Lebensjahre besuchte ich die 3. Bürgerschule und 4 Jahre später das Wettiner Gymnasium daselbst, welches ich 1920 als Abiturient verließ. Ostern 1921 begann ich in Jena mit dem Studium der Medizin, bestand dort 1923 das Physikum und im Wintersemester 1926/27 das Staatsexamen. Vom 1. Mai 1927 bis 31. Mai 1928 war ich an der Medizinischen Universitätsklinik zu Jena tätig und stellte dort die Versuche für die vorliegende Arbeit an. Seit 1. Juni 1928 bin ich an der Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses zu Erfurt beschäftigt. Ich bin approbierter Arzt seit 1. Mai 1928.